

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学 号: 200426003

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

木麻黄单宁对盐胁迫的响应  
和化感作用的研究

Effects of Salinity on Tannin Production of *Casuarina*  
Species and Allelopathy

黄 舒 静

指导教师姓名: 林 益 明 教授

专 业 名 称: 植 物 学

论文提交日期: 2007 年 5 月 1 日

论文答辩时间: 2007 年 6 月 14 日

学位授予日期: 2007 年 月 日

答辩委员会主席: 李振基 教授

评 阅 人: 丁振华 教授、黎中宝 教授

2007 年 6 月

# 厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。  
本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在          年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期：      年    月    日

导师签名：

日期：      年    月    日

# 目 录

中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
第一章 前 言.....	1
1.1 植物单宁的概述.....	1
1.2 木麻黄单宁的研究现状.....	3
1.3 本研究的的目的和意义.....	5
参考文献.....	6
第二章 不同温度处理对两种木麻黄单宁提取的影响.....	10
2.1 采样地的基本情况.....	10
2.2 材料与方法.....	10
2.2.1 样品的采集.....	10
2.2.2 样品的处理.....	11
2.2.3 单宁含量的测定.....	11
2.3 统计分析.....	12
2.4 结果与讨论.....	12
2.4.1 粗枝木麻黄在不同温度处理下各类单宁的含量变化.....	12
2.4.1.1 总酚含量的变化.....	12
2.4.1.2 缩合单宁含量的变化.....	13
2.4.2 细枝木麻黄在不同温度处理下各类单宁的含量变化.....	14
2.4.2.1 总酚含量的变化.....	14
2.4.2.2 缩合单宁含量的变化.....	15
2.4.3 讨论.....	16
参考文献.....	17
第三章 三大洲短枝木麻黄国际种源小枝的单宁含量研究.....	20
3.1 采样地的基本情况.....	20
3.2 材料与方法.....	21

3.2.1 样品的采集.....	21
3.2.2 样品的处理.....	21
3.2.3 单宁含量的测定.....	21
3.3 统计分析.....	21
3.4 结果与讨论.....	21
3.4.1 三大洲短枝木麻黄国际种源小枝的各类单宁含量分析.....	21
3.4.2 讨论.....	23
参考文献.....	25
第四章 培养盐度对短枝木麻黄单宁含量的效应.....	27
4.1 采样地的基本情况.....	27
4.2 材料与方法.....	27
4.2.1 实验材料.....	27
4.2.2 材料的处理.....	27
4.2.3 单宁含量的测定.....	28
4.3 结果与讨论.....	28
4.3.1 短枝木麻黄扦插苗在不同盐度培养下总酚含量的变化.....	28
4.3.2 短枝木麻黄扦插苗在不同盐度培养下缩合单宁含量的变化.....	31
4.3.3 讨论.....	42
参考文献.....	43
第五章 粗提单宁对短枝木麻黄幼苗生长的影响.....	45
5.1 采样地的基本情况.....	45
5.2 材料与方法.....	45
5.2.1 样品的采集.....	45
5.2.2 样品的处理.....	45
5.2.3 单宁含量的测定.....	46
5.3 统计分析.....	46
5.4 结果与讨论.....	46
5.4.1 木麻黄粗提单宁对短枝木麻黄幼苗根和苗的影响.....	46
5.4.2 短枝木麻黄幼苗在不同浓度单宁作用下总酚含量的变化.....	47

5.4.3 短枝木麻黄幼苗在不同浓度单宁作用下缩合单宁含量的变化....	48
5.4.4 讨论.....	51
参考文献.....	52
第六章 结 论.....	54
附表.....	56
附录.....	59
致谢.....	60

# Contents

<b>Abstract (in Chinese)</b> .....	I
<b>Abstract (in English)</b> .....	III
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	1
<b>1.1 Summary of vegetable tannins</b> .....	1
<b>1.2 Studies on tannins of <i>Casuarina</i> species</b> .....	3
<b>1.3 Purpose and aspects of study</b> .....	5
<b>References</b> .....	6
<b>Chapter 2 Effect of drying temperature on estimates of polyphenolics and condensed tannins of two <i>Casuarina</i> Species</b> .....	10
<b>2.1 Site description</b> .....	10
<b>2.2 Materials and methods</b> .....	10
2.2.1 Samples collection.....	10
2.2.2 Samples treatment.....	11
2.2.3 Analysis of tannins.....	11
<b>2.3 Statistical analyses</b> .....	12
<b>2.4 Results and discussion</b> .....	12
2.4.1 Effect of drying temperature on estimates of tannins of <i>Casuarina glauca</i> .....	12
2.4.1.1 Changes of total phenolics content under different drying temperature.....	12
2.4.1.2 Changes of condensed tannins contents under different drying temperature.....	13
2.4.2 Effect of drying temperature on estimates of tannins of <i>Casuarina cunninghamiana</i> .....	14

2.4.2.1	Changes of total phenolics content under different drying temperature.....	14
2.4.2.2	Changes of condensed tannins contents under different drying temperature.....	15
2.4.3	Discussion.....	16
<b>References.....</b>		<b>17</b>
 <b>Chapter 3 Tannins contents of international provenances of</b>		
	<b><i>Casuarina equisetifolia</i>.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1</b>	<b>Site description.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2</b>	<b>Materials and methods.....</b>	<b>21</b>
3.2.1	Samples collection.....	21
3.2.2	Samples treatment.....	21
3.2.3	Analysis of tannins.....	21
<b>3.3</b>	<b>Statistical analyses.....</b>	<b>21</b>
<b>3.4</b>	<b>Results and discussion.....</b>	<b>21</b>
3.4.1	Tannins contents of international provenances of <i>Casuarina equisetifolia</i> in three Continents.....	21
3.4.2	Discussion.....	23
<b>References.....</b>		<b>25</b>
 <b>Chapter 4 Effect of salinity on tannins contents of <i>Casuarina</i></b>		
	<b><i>equisetifolia</i>.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1</b>	<b>Site description.....</b>	<b>27</b>
<b>4.2</b>	<b>Materials and methods.....</b>	<b>27</b>
4.2.1	Plant samples.....	27
4.2.2	Samples treatment.....	27
4.2.3	Analysis of tannins.....	28
<b>4.3</b>	<b>Results and discussion.....</b>	<b>28</b>
4.3.1	Total phenolics content of <i>Casuarina equisetifolia</i> on different salinity	



culture.....	28
4.3.2 Condensed tannins contents of <i>Casuarina equisetifolia</i> on different salinity culture.....	31
4.3.3 Discussion.....	42
References.....	43
<b>Chapter 5 Effect of crude extracts of tannins on allelopathy of seedlings of <i>Casuarina equisetifolia</i>.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1 Site description.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2 Materials and methods.....</b>	<b>45</b>
5.2.1 Plant samples.....	45
5.2.2 Samples treatment.....	45
5.2.3 Analysis of tannins.....	46
<b>5.3 Statistical analyses.....</b>	<b>46</b>
<b>5.4 Results and discussion.....</b>	<b>46</b>
5.4.1 Effect of crude extracts of tannins from <i>Casuarina equisetifolia</i> branchlet on the growth of <i>Casuarina equisetifolia</i> seedlings roots and shoots .....	46
5.4.2 Effect of crude extracts of tannins on total phenolics content of seedlings.....	47
5.4.3 Effect of crude extracts of tannins on condensed tannins content of seedlings.....	48
5.4.4 Discussion.....	51
References.....	52
<b>Chapter 6 Conclusions.....</b>	<b>54</b>
<b>Annexed table.....</b>	<b>56</b>
<b>Appendix.....</b>	<b>59</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>60</b>

## 摘 要

单宁是木麻黄体内的重要次生代谢物质,对木麻黄的生长发育及抗逆性具有重要的作用。本文探讨了不同的烘干温度处理对粗枝木麻黄 (*Casuarina glauca*) 和细枝木麻黄 (*Casuarina cunninghamiana*) 单宁提取的影响,分析研究了短枝木麻黄 (*Casuarina equisetifolia*) 国际种源单宁的含量,并探讨了不同盐度培养下短枝木麻黄扦插苗内单宁的含量,以及粗提单宁对短枝木麻黄幼苗的化感作用效应。研究结果显示:

1. 不同的烘干温度 (40℃、60℃、80℃、105℃) 条件下,粗枝木麻黄在 60℃时可提取的总酚含量最多;细枝木麻黄在 80℃可提取的总酚含量最多;粗枝木麻黄中的可溶态缩合单宁在 80℃时有最大提取量;细枝木麻黄中的可溶态缩合单宁在 60℃时有最大提取量。两种木麻黄的纤维素结合态缩合单宁和蛋白质结合态缩合单宁含量均随着温度的升高呈上升趋势。

2. 在 33 个短枝木麻黄国际种源中,大洋洲种源的短枝木麻黄的总酚含量较低 ( $n = 8$ ),与非洲 ( $n = 5$ ) 和亚洲 ( $n = 20$ ) 种源的短枝木麻黄总酚含量差异显著;大洋洲种源的可溶态缩合单宁的含量与其他洲种源的没有显著性差异,但亚洲种源和非洲种源间有显著性差异,非洲种源的可溶态缩合单宁含量最高;各洲种源的结合态缩合单宁均无显著性差异。以选择具抗性树种为培养目标,筛选出 23 号 (马来西亚),5 号 (印度),30 号 (泰国) 为沿海防护林中较为优良的短枝木麻黄树种种源。

3. 不同栽培盐度 (0‰、2‰、4‰、6‰、8‰、10‰) 下,培养 45 d,短枝木麻黄扦插苗的总酚、可溶性缩合单宁、纤维素结合态缩合单宁、蛋白质结合态缩合单宁、总缩合单宁的含量均升高,在 10‰单宁含量最高。栽培 60~75 d,各盐度短枝木麻黄扦插苗中总酚、可溶性缩合单宁、总缩合单宁含量差异不显著。栽培 90~105 d,短枝木麻黄扦插苗的总酚、可溶性缩合单宁、纤维素结合态缩合单宁、蛋白质结合态缩合单宁以及单宁与蛋白质的结合能力各项指标均呈现出不规则的波动性变化。培养盐度对短枝木麻黄扦插苗单宁含量影响不显著。

4. 短枝木麻黄小枝粗提单宁在设置的浓度范围 ( $6.25 \times 10^{-3}$ ,  $12.5 \times 10^{-3}$ , 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 内均能显著地抑制其幼苗的生长,具有化感作用。在幼苗体内,除了纤维素结合态缩合单宁含量出现波动变化,总酚、可溶

性缩合单宁、总缩合单宁的含量与处理浓度存在显著的负线性相关。说明，短枝木麻黄粗提单宁还影响其幼苗体内次生代谢物（单宁）的合成。

**关键词：**木麻黄；单宁；盐胁迫；化感作用

厦门大学博士论文摘要库

# Effects of Salinity on Tannin Production of *Casuarina* Species and Allelopathy

## ABSTRACT

Tannins known as the group of phenolic compounds are the significant plant secondary metabolites. They occur widely in *Casuarina* species, and have important nutritional and physiological consequences. The effect of different drying temperature on estimates of polyphenolics and condensed tannins of two *Casuarina* species (*Casuarina glauca* and *Casuarina cunninghamiana*), tannins level in international provenances of *Casuarina equisetifolia*, salinity effects on tannin production of *Casuarina equisetifolia* and allelopathy were studied in this paper.

The results showed as follows:

1. Under the different drying temperature (40°C, 60°C, 80°C, and 105°C), contents of the total phenolics and condensed tannins changed with drying temperature. The drying temperature for the highest extraction of total phenolics was at 60°C for *C. glauca* and 80°C for *C. cunninghamiana*, respectively. While the drying temperature for highest extraction of extractable condensed tannins was at 80°C for *C. glauca*, 60°C for *C. cunninghamiana*, respectively. But the pattern of protein- and fiber- bound condensed tannins was the identical, namely increased with temperature.

2. The content of total phenolics, extractable condensed tannins and bound condensed tannins were analyzed on the 33 international provenances of *C. equisetifolia*. The content of total phenolics in Oceania provenances of *C. equisetifolia* were lower than that in Africa and Asia provenances; the extractable condensed tannins of Africa provenances were higher than that of Oceania and Asia; bound condensed tannins of different provenances of *C. equisetifolia* showed not significant differences from each other at  $P > 0.05$ . Three good provenances, namely, the 23rd (Malaysia), the 5th (India), the 30th (Thailand) were selected according to the above analyses.

3. Effects of salinity (0‰, 2‰, 4‰, 6‰, 8‰ and 10‰) on tannins production

of *C. equisetifolia* cutting seedlings were conducted. During the period of different salinity culture (45 d), total phenolics, extractable condensed tannins, protein- and fiber- bound condensed tannins of the seedlings increased and reached the highest at salinity 10‰. No significant differences were found among total phenolics, extractable condensed tannins and total condensed tannins of *C. equisetifolia* on different salinity culture from 60 d to 75 d. The tannins contents and protein precipitation capacity fluctuated from 90 d to 105 d. These observations suggested that salinity had no great effect on tannins production of *C. equisetifolia* cutting seedlings during the culture.

4. The crude extracts of tannins from *C. equisetifolia* branchlets had significant allelopathy effect on the *C. equisetifolia* seedlings. They can inhibit the growth of the seedlings. The significantly negative correlations were found between total phenolics, condensed tannins, and total condensed tannins of seedlings with the increasing concentrations of crude extracts of tannins, except for bound condensed tannins.

**Keywords:** Casuarina; tannins; salinity; allelopathy

## 第一章 前言

### 1.1 植物单宁的概述

植物单宁 (vegetable tannins), 又称植物多酚 (plant polyphenols) 是一类广泛存在于植物体内的多元酚化合物, 在维管束植物中的含量仅次于纤维素、半纤维素和木质素, 主要存在于植物的皮、根、叶、果中, 含量可达 20% 甚至更高 (Benner *et al.*, 1990; Hernes *et al.*, 2001; Lin *et al.*, 2006)。作为皮革的一种传统鞣剂, 单宁一般指的是分子量为 500~3000 u 的多酚 (孙达旺, 1992; 石碧和狄莹, 2000)。Haslam(1989)提出了植物多酚这一术语, 它包括了单宁及相关化合物 (如单宁的前体化合物和单宁的聚合物)。根据化学结构的不同, 植物多酚分为水解单宁 (鞣酸酯类多酚) 和缩合单宁 (黄烷醇类多酚或原花色素)。前者主要是鞣酸及其衍生物与多元醇以酯键或醚键形成, 可细分为鞣单宁和鞣花单宁两类; 后者主要是羟基黄烷醇类单体的缩合物, 单体间以 C—C 键相连 (Hemingway and Karchesy, 1989); 缩合单宁和水解单宁之间的这种结构的差异引起了这两种化合物在植物体内的功能的不同 (Zucker, 1983)。

在被子植物中, 单宁具有潜在的提供源信息的潜力, 这与木质素和角质是互补的 (Goni and Hedges, 1990)。例如单子叶植物不能被木质素的结构所分开, 仅仅能被角质略微分开, 一种缩合单宁的单体 (*ent-epicatechin*), 只特异地存在于单子叶植物中的, 并且含原天竺葵定的聚合物在单子叶植物中的分布比在双子叶植物中的分布要更普遍 (Ellis *et al.*, 1983)。相反, 水解单宁仅仅在双子叶植物中发现 (Okuda *et al.*, 1995; Salminen *et al.*, 2001), 这易与单子叶植物相区别; 单宁相关的化合物也能用来区分被子植物和裸子植物。如黄烷醇主要是在被子植物中发现的。除此以外, 缩合单宁的二、三聚合物在被子植物中的出现包含了更多种类依赖的分类学信息 (Haslam, 1989)。

除作为潜在的生物标记物外, 单宁具有大量有机物的特征, 包括颜色、收敛性和反应性。单宁与蛋白质结合的能力称之为收敛性或涩性。单宁与生物碱和多糖也可发生与单宁-蛋白质结合相似的复合反应。收敛性是单宁多种生理活性的基础。

在植物多酚的应用及相关领域, 多酚的含量或纯度测定是非常重要的也是最常遇到的问题 (Waterman and Mole, 1994; Mueller-Harvey, 2001)。例如, 植鞣

剂的单宁含量决定了其使用质量，而高粱、豆类中多酚的含量影响着其营养价值；木材、农作物中多酚含量与其抗虫、抗病菌有关，在食品中有时要求一定量的多酚以保持恰当的风味。所有这些关系到植物多酚含量的测定，因此如何快速、简便、准确地测定出各类样品中多酚的含量更是急需解决的问题(Hernes and Hedges, 1999)。

由于植物多酚与黄酮类、蒽醌类、简单酚和木质素等在植物体内共存并且性质相近，其本身更是一类结构和性质都极为相似的混合物，并且多酚性质较为活泼，很容易发生缩合或者降解，因此对其进行精确定量比较困难，特别是分离提纯的方法对其进行“绝对”的定量测定是不可能的。目前虽然有数十种多酚的定量方法，但这些方法都是相对的，几乎没有一种可以适用于所有测定。最常用的几种方法为：Folin-Denis (FD)法、Prussian Blue (PB)法、香草醛法、正丁醇-盐酸法、Bovine Serum Albumin (BSA)沉淀法（石碧和狄莹, 2000; Schofield *et al.*, 2001; Mueller-Harvey, 2001）。

测定植物样品中的总酚含量，可采用FD和PB法（Hyder *et al.*, 2002）；如果测定缩合单宁含量，可采用香草醛法和正丁醇-盐酸法（Waterman and Mole, 1994; Giner-Chavez *et al.*, 1997）；香草醛法和正丁醇法联合起来，可用于测定缩合单宁的聚合度，在不能用复杂的波谱技术测定的情况下，可用这种方法粗略确定缩合单宁的分子量，它特别适用于比较植物不同生长期缩合单宁的含量；当测定由多酚涩味性所带来的生物活性及相关特性时，可采用BSA沉淀法；当需要着重了解样品中具有捕捉自由基、络合金属离子等生物活性的多酚含量时，可相应采取还原法或络合法等测定方法对多酚进行定量（Hemingway and Karchesy *et al.*, 1989; Hernes and Hedges, 1999; Makkar *et al.*, 1999; 石碧和狄莹, 2000; Schofield *et al.*, 2001; Mueller-Harvey, 2001）。

在实际测定中，不同方法的测定结果通常具有较大的差异（黄玉杰等, 2005）。经常采取几种不同的方法对同一样品进行测定，从而对样品所含的总酚、特定结构的酚、单宁与非单宁酚含量得到一个综合的表征和认识。对于特定的体系，可以将总酚量近似看成单宁量，尤其在比较同一类样品时较为合适（石碧和狄莹, 2000）。

植物多酚含量的测定中最为关键的一步是多酚的提取。提取时样品的状况

和提取条件都可能导致多酚量的很大变化。植物原料的贮存、干燥、粉碎, 提取溶剂、温度都可能改变多酚的化学结构和提取效率, 从而改变了多酚的化学、物理化学和生物活性, 使测定值与真实情况有很大出入 (Palmer *et al.*, 2000; Chavan *et al.*, 2001)。当测定植物原料中多酚和单宁的含量时, 贮存通常使提取率降低; 因此尽可能采取新鲜材料, 首先应采取短时间 (2~5 min) 的水蒸气加热, 使样品中多酚氧化酶 PPO 等酶丧失活性, 避免对原料成分的改变, 否则应对样品进行干燥后才能短时间的贮存, 最好是冷冻干燥, 避免高温。样品提取前需要粉碎成粉末, 最适合的尺寸在 100 目左右。水虽然是植物多酚的良好溶剂, 但并非最适合多酚的提取, 有机溶剂和水的复合体系 (有机溶剂占 50%~70%) 最适合多酚的提取, 有机溶剂的提取顺序为: 丙醇<乙醇<甲醇<丙酮<四氢呋喃。其中应用最多的是丙酮-水体系 (孙达旺, 1992; 石碧和狄莹, 2000; Kennedy *et al.*, 2000; Mueller-Harvey, 2001)。黄玉杰等 (2005) 的研究表明, 含有 1.0% HCl 的 7: 3(v/v) 的丙酮-水提取液是合适的提取溶剂, 同时通过 100 目筛的样品能最多地将结合态的缩合单宁转化为可溶态。

## 1.2 木麻黄单宁的研究现状

木麻黄科 (Casuarinaceae) 植物天然分布于澳大利亚、太平洋群岛及东南亚地区, 现已广泛栽培于世界热带和亚热带地区, 在长期系统发育过程中形成了众多具有遗传差异的地理种源 (仲崇禄, 1995; 叶功富等, 1995)。木麻黄是具有多用途的优良速生树种, 不仅适于滨海防风固沙、盐碱地改良和干旱地区造林, 也是重要的用材、薪材和饲料树种, 并可制浆造纸 (叶功富等, 1994)。我国在 20 世纪 50 年代后开始大面积引进木麻黄作为沿海防风固沙树种, 现在木麻黄林已经成为沿海防护林系统, 尤其是东南沿海防护林体系的重要组成部分。它对改善沿海地区生态环境, 促进沿海经济发展起着十分巨大的作用。

福建省是我国木麻黄引种较早的省份, 且木麻黄防护林面积比较大。在国内, 有关木麻黄的研究主要集中在木麻黄的更新改造及抗旱抗盐生理生态等方面 (国家“九五”科技攻关项目——海岸带防护林更新改造技术研究, 防护林科技, 2000, 专刊 1; 梁洁, 2003)。而对木麻黄的化学生态学研究的报道较少 (邓兰桂等, 1996; 阎凤鸣, 2003)。

木麻黄林作为沿海防护林, 生长的地带多为滨海沙地, 自然条件恶劣, 在



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库